

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2003年1月9日 (09.01.2003)

PCT

(10)国際公開番号
WO 03/002142 A1

(51)国際特許分類: A61K 39/00, 45/08, A61P 35/00, 35/02

(OHSUGI,Yoshiyuki) [JP/JP]; 〒104-8301 東京都中央区京橋2-1-9 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP).

(21)国際出願番号: PCT/JP02/06597

(74)代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA,Takashi et al.); 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(22)国際出願日: 2002年6月28日 (28.06.2002)

(81)指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25)国際出願の言語: 日本語

(26)国際公開の言語: 日本語

(30)優先権データ:
特願2001-199449 2001年6月29日 (29.06.2001) JP

(84)指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒115-8543 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo (JP).

(71)出願人および
(72)発明者: 真弓 忠範 (MAYUMI,Tadanori) [JP/JP]; 〒655-0041 兵庫県神戸市垂水区神陵台4-1-5 1-507 Hyogo (JP). 杉山治夫 (SUGIYAMA,Haruo) [JP/JP]; 〒562-0036 大阪府箕面市船場西2-19-30 Osaka (JP).

(72)発明者; および
(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 大杉 義征



(54)Title: CANCER VACCINE CONTAINING CANCER ANTIGEN BASED ON TUMOR SUPPRESSOR GENE WT1 PRODUCT AND CATIONIC LIPOSOMES

(54)発明の名称: 癌抑制遺伝子WT1の産物に基づく抗癌原とカチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン

WO 03/002142 A1

(57)Abstract: A cancer vaccine containing a cancer antigen comprising as the active ingredient a tumor suppressor gene WT1 product or its peptide fragment and cationic liposomes.

(57)要約:

癌抑制遺伝子WT1の産物又はその部分ペプチドを活性成物とする癌抗原と、カチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン。

明細書

癌抑制遺伝子WT1の産物に基づく癌抗原とカチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン

発明の分野

本発明は、Wilms腫瘍の癌抑制遺伝子WT1の産物に基づく癌抗原とリポフェクチンとを含んで成る癌ワクチンに関する。この癌ワクチンは、白血病、骨髄異形成症候群、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫などの血液の癌、又は固形癌、例えば胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌等、並びにさらにはWT1を発現するすべての癌に対する抗癌ワクチンとして有用である。

背景技術

異物を排除するための免疫機構には、一般に、抗原を認識して抗原提示細胞として機能するマクロファージ、該マクロファージの抗原提示を認識して種々のリンホカインを產生して他のT-細胞等を活性化するヘルパーT-細胞、該リンホカインの作用により抗体產生細胞に分化するB-リンパ球等が関与する液性免疫と、抗原の提示を受けて分化したキラーT-細胞が標的細胞を攻撃し破壊する細胞性免疫とがある。

現在のところ、癌の免疫は主として、キラーT-細胞が関与する細胞性免疫によるものと考えられている。キラーT-細胞による癌免疫においては、主要組織適合抗原（Major Histocompatibility Complex；MHC）クラスIと癌抗原との複合体の形で提示された癌抗原を認識した前駆体T-細胞が分化増殖して生成したキラーT-

胞が癌細胞を攻撃し、破壊する。この際、癌細胞はMHCクラスI抗原と癌抗原との複合体をその細胞表面に提示しており、これがキラーT-細胞の標的とされる (Cur. Opin. Immunol., 5, 709, 1993; Cur. Opin. Immunol., 5, 719, 1993; Cell, 82, 13, 1995; Immunol. Rev., 146, 167, 1995)。

標的細胞である癌細胞上にMHCクラスI抗原により提示される前記の癌抗原は、癌細胞内で合成された抗原蛋白質が細胞内プロテアーゼによりプロセシングされて生成した約8～12個のアミノ酸から成るペプチドであると考えられている (Cur. Opin. Immunol., 5, 709, 1993; Cur. Opin. Immunol., 5, 719, 1993; Cell, 82, 13, 1995; Immunol. Rev., 146, 167, 1995)。

Wilms腫瘍の癌抑制遺伝子WT1 (WT1遺伝子) は、Wilms腫瘍、無紅彩、泌尿生殖器異常、精神発達遅滞などを合併するWAGR症候群の解析からWilms腫瘍の原因遺伝子の1つとして染色体11p13から単離された (Gessler, M. ら、Nature, Vol. 343, p. 774-778, 1990) ものであり、ゲノムDNAは約50kbで10のエキソンから成り、そのcDNAは約3kbである。cDNAから推定されるアミノ酸配列は、配列番号：1に示す通りである (Mol. Cell. Biol., 11, 1707, 1991)。

WT1遺伝子はヒト白血病で高発現しており、白血病細胞をWT1アンチセンスオリゴマーで処理するとその細胞増殖が抑制される (特開平9-104627号公報) ことなどから、WT1遺伝子は白血病細胞の増殖に促進的に働いていることが示唆されている。さらに、WT1遺伝子は、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌等の固形癌においても高発現しており (特願平9-191635) 、WT1遺伝子は白血病及び固形癌における新しい腫瘍マーカーであるこ

とが判明した。

このため、WT 1 遺伝子の発現生成物の部分から成る約 8 ~ 12 個のアミノ酸を有するペプチドを投与すれば上記広範囲の癌に対する癌ワクチンとして機能することが期待される。しかしながら、そのようなペプチドをそのまま投与しても癌ワクチンとして機能することは困難である。この原因としては、投与されたペプチドが抗原提示細胞上の主要組織抗原クラス I に効果的に送達されないためと予想される。

カチオン性リポソームであるリポフェクチン (Lipofectin) は人工脂質である N - [1 - (2, 3 - ジオレイルオキシ) プロピル] - N, N, N - トリメチルアンモニウムクロライド (DOTMA) とリン脂質であるジオレイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE) との 1 : 1 混合物であり、非ウイルス性の遺伝子導入用キャリヤーとして注目されたが、その後ペプチド抗原を抗原提示細胞表面の主要組織抗原クラス I に送達するために機能することが注目されている（臨床免疫 Vol. 34, No. 6, p842-847, 2000）。しかしながら、カチオン性リポソームがペプチド抗原のキャリヤーとしてどの程度普遍性があるか不明であり、癌抑制遺伝子 WT 1 の発現生成物の断片からなる癌抗原ペプチドのキャリヤーとして機能し得るか否かは不明である。

発明の開示

従って本発明は、WT 1 遺伝子発現生成物に由来する癌抗原ペプチドと、そのためのキャリヤーとして有効な物質とを含んで成る新規な癌ワクチンを提供しようとするものである。

本発明者らは、上記の課題を解決すべく種々検討した結果、WT 1 遺伝子の発現生成物のアミノ酸配列中で、マウス及びヒトの MHC

CクラスI及びMHCクラスIIとの結合において、アンカーアミノ酸として機能すると予想される少なくとも1個のアミノ酸を含有する連続する7～30個のアミノ酸から成るペプチドが癌抗原として機能し、このペプチド抗原のキャリヤーとして、リポフェクチン等のカチオン性リポソームが有能であることを確認して本発明を完成了。

従って本発明は、マウスWT1発現産物又はその部分を含んで成る癌抗原と、カチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチンを提供する。好ましい態様において、本発明は、WT1のcDNAに対応する配列番号：1に示すアミノ酸配列において、MHC抗原との結合のためのアンカーアミノ酸として機能すると推定されるPh e, Tyr, Leu, Met, Asn及びIleから成る群から選択される少なくとも1個のアミノ酸を含む6～30個のアミノ酸から成るペプチドを活性成分とする癌抗原と、カチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチンを提供する。

さらに、本発明は、ヒトWT1のcDNAに対応する配列番号：2に示すアミノ酸配列において、MHC抗原との結合のためのアンカーアミノ酸として機能すると推定されるMet, Leu及びValから成る群から選択される少なくとも1個のアミノ酸を含む7～30個のアミノ酸から成るペプチドを活性成分とする癌抗原と、カチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチンを提供する。

図面の簡単な説明

図1のAは、実施例1における、(3) RNAS細胞、及び(4)癌抗原ペプチドD^b126で刺激したRNAS細胞を用いて、癌抗原ペプチドD^b126とリポフェクチン(LPF)との混合物(黒丸)、D^b126でパルスしたリポポリサッカライドーブラスト(白四角)、リポフェク

チン単独（白三角）及び癌抗原ペプチドD^b126単独（白丸）の、細胞障害性T細胞誘導能を比較したグラフであり、Bは（1）C1498細胞、及び（2）WT1遺伝子導入C1498細胞を用いて、上記Aと同様の試験を行なった結果を示すグラフである。Aは、癌抗原ペプチドD^b126とリポフェクチンとの組合せが細胞障害性T細胞誘導能を有する事を示し、Bはその活性がWT1特異的である事を示す。

図2のAは、実施例2における、WT1遺伝子導入C1498細胞を用いての、ペプチドD^b126の抗癌効果に対するアジュバント（キャリヤー）としてのリポフェクチンの効果を示すグラフであり、BはC1498細胞を用いての同様の試験の結果を示すグラフである。被験物質を示す記号は図1と同じである。Aはリポフェクチンが癌抗原ペプチドD^b126のアジュバント（キャリヤー）として有効であることを示し、AとBとの比較から抗癌効果がWT1特異的である事が示される。

発明の実施の形態

本発明においては、癌抗原ペプチドを設計する際の基礎として、マウスMHCクラスIのK^b及びD^b、並びにヒトHLAのA0201を選択し、これらと高い親和性を有すると予想されるペプチドを選択した。

Immunogenetics Vol. 41, p. 178-228 (1995) の記載から、K^bへの結合のアンカーアミノ酸として5番目のPhe及びTry並びに8番目のLeu及びMet等が予想され、またD^bへの結合のアンカーアミノ酸として5番目のAsn並びに9番目のMet及びIle等が予想される。

また、癌細胞の表面においてMHCクラスIにより提示される癌抗原ペプチドのサイズはおよそ8～12個であることが知られている。従って、本発明の癌抗原ペプチドは、配列番号：1に示すWT

1 遺伝子産物のアミノ酸配列において、Phe, Tyr, Leu, Met, Asn及びIleの少なくとも1個を含む、連続する7～30個のアミノ酸から成るペプチドである。アミノ酸の数は好ましくは8～12個であり、例えば8又は9個である。

本発明においては、その具体例として、MHCクラスIのK^bに結合するペプチドとして、アミノ酸8個からなる下記ペプチド：

K^b 45 Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu (配列番号：3)

K^b 330 Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu (配列番号：4)

MHCクラスIのD^bに結合するペプチドとして、アミノ酸9個から成る下記のペプチド：

D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)

D^b 221 Tyr Ser Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met (配列番号：6)

D^b 235 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：7)

が挙げられる。上記配列において下線を付したアミノ酸がアンカーとして機能すると予想されるアミノ酸である。

これらはいずれもK^b又はD^bと強～中程度の結合親和性(kd値)を有しているが、最も高い結合親和性を示すD^b 126ペプチドを以後の実験において用いた。

また、ヒトについては、Immunogenetics Vol. 41, p. 178-228 (1995) の記載から、ヒトのHLA-A0201への結合アンカーアミノ酸として、N-末端から2番目のLeu及びMet、並びにN-末端から9番目のVal及びLeuが予想される。そこで、ヒトWT1蛋白質のアミノ酸配列 (Mol. Coll. Biol. Vol. 11, p. 1707-1712, 1991) (配列番号：2) 中で、上の条件に合致する、9個

のアミノ酸から成る下記の2種類のペプチドが挙げられる。

D^b 126; Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号: 5)

(マウスにおけるD^b 126 の配列と同じ)

WH 187; Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号: 8)

(下線はアンカーアミノ酸を示す)。

本発明の癌抗原ペプチドはまた、WT 1 遺伝子の発現生成物の部分であるペプチドにアミノ酸置換などの修飾を導入したペプチドであってもよい。このような修飾されたペプチドの例として、次のアミノ酸配列: Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号: 9) を含み、9~30個のアミノ酸から成るペプチドを活性成分とする癌抗原ペプチドが挙げられる。具体例として、上記のペプチド D^b 235(配列番号: 7) の2位のMet が Tyr に変化したアミノ酸配列: Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号: 9) を有するペプチドが挙げられる。

カチオン性リポソームとしては、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムクロライド(DOTMA)、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート(DOTAP)、もしくはジオクタデシルアミドーグリシルスペルミン(DOGS) またはそれらと中性脂質との混合物を含むリポソームが挙げられる。

中性脂質としては、たとえば、レシチン、リゾレシチン、スフィンゴミエリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルエタノールアミン、ジオレイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)などが挙げられる。混合物の例としては、人工脂質であるN-[1-(2,

3-ジオレイルオキシ) プロピル] -N, N, N-トリメチルアンモニウムクロライド (DOTMA) とリン脂質であるジオレイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE) との 1 : 1 混合物であるリポフェクチン (Lipofectin) が挙げられる。

本発明の癌ワクチンは、WT 1 遺伝子の発現レベルの上昇を伴う癌、例えば白血病、骨髄異形成症候群、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫などの血液の癌、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌等の固形癌の予防又は治療のために使用することができる。このワクチンは、経口投与、又は非経口投与、例えば腹腔内投与、皮下投与、皮内投与、筋肉内投与、静脈内投与、鼻腔内投与等により投与することができる。

本発明の癌ワクチンの投与量は一般に、1 日当たり 0.1 μg ~ 1 mg / kg である。

実施例

次に、実施例により、本発明の癌ワクチンの有用性を明らかにする。

実施例 1.

リポポリサッカライドーブラスト (LPS-blast) の調製

C57BL/6マウスから脾細胞を回収し、この細胞を、リポポリサッカライド (LPS) (10 μg/mL) を含有する完全 (complete) RPMI 培地 中で 3 日間インキュベートした。この細胞を洗浄した後、癌抗原ペプチド D^b 126 (1 μM) 及びオボアルブミン (OVA) (100 μg/mL) を含有する完全 RPMI 培地 中で 2 時間インキュベートした。細胞を洗浄した後、2mL の HBSS (Hanks' balanced salt solution) 中に懸濁し、これをポリサッカライドーブラスト (LPS-blast) とした。

細胞障害性T細胞(CTL)誘導能の評価

C57BL/6マウスの背部皮下に癌抗原ペプチドD^b126とリポフェクチン(LPF)との混合物(db126とLPFを1:2の重量比で混合したもの)(マウス当たり10nmolのD^b126)又は、ポジティブコントロールとして、リポポリサッカライドーブラスト(LPS-blast)(マウス当たり1mL)を腹腔に一週間隔で3回免疫した。最終免疫10日後に脾細胞を回収してエフェクター(effecter)細胞とした。癌抗原ペプチドD^b126で刺激(1μM、2時間、37°C、5%CO₂条件下)した脾細胞をHBSSで洗浄し、ステイムレーター(stimulator)細胞を得た。

前記のエフェクター細胞(5×10⁶細胞/ウェル)と前記ステイムレーター細胞(2.5×10⁶細胞/ウェル)とを混合し、リンパ球・リンパ球混合培養を行うことにより、細胞障害性T細胞のインシビトロ2次抗原刺激を行った。5日後、細胞障害性T細胞を回収した。何れもNa₂⁵¹CrO₄でラベル化(0.56MBq/10⁶cells、37°C、5%CO₂条件下で1時間処理)した、(1) C1498細胞、(2) TW1遺伝子が導入されておりそれを発現するC1498細胞(C1498muWT1)、(3) RMA-S細胞、及び(4) 癌抗原ペプチドD^b126で刺激(1μM、5%CO₂1時間処理)したRMA-S細胞(D^b126-pulsed RMA-S)を、標的細胞として96ウェルマイクロプレートにプレートし(10⁴細胞/ウェル)、これに、前記のごとく調製した細胞障害性T細胞に播種した。エフェクター細胞を加え、4時間培養し、上清に遊離した⁵¹Crの放射活性を測定した。細胞障害活性は以下に示す式に従って算出した。

$$\text{細胞溶解} (\%) = \frac{\text{実験放出} - \text{自然放出}}{\text{最大放出} - \text{自然放出}} \times 100$$

結果

まず、誘導された細胞障害性T細胞が癌抗原ペプチドD^b126に特異

的か否かを検討するために、標的細胞として前記（3）RMA-S細胞と（4）D^b126-pulsed RMA-S細胞を用いたところ、癌抗原ペプチドD^b126特異的な細胞障害性T細胞の誘導が確認された（図1.A）。更に、誘導された細胞障害性T細胞がWT1発現細胞を特異的に障害するかを検討するために、標的細胞として、前記（1）C1498細胞と（2）WT1遺伝子導入細胞C1498muWT1とを用いたところ、WT1特異的なCTLの誘導が確認された（図1.B）。

実施例2. 癌ワクチンキャリアとしてリポフェクチン（LPF） を用いた際の癌抗原特異的抗腫瘍効果

実施例1において、癌抗原ペプチドD^b126のアジュバントとしてリポフェクチン（LPF）を用いることにより細胞障害性T細胞を効果的に誘導することが示されたので、癌ワクチン用アジュバントとしてのリポフェクチン（LPF）の有用性を更に確認する目的で、アジュバント（キャリヤー）としてリポフェクチンを用いて免疫した際の癌抗原特異的抗腫瘍効果について検討した。

腫瘍モデルとしてWT1遺伝子導入C1498細胞（C1498muWT1細胞）を用い、免疫動物としてC57BL/6マウスを用い、そしてモデル癌抗原としてペプチドD^b126を用いた。すなわち、マウスの背部皮下に、実施例1の場合と同じペプチドD^b126とリポフェクチン（LPF）との混合物（マウス当たり10nmol）を投与し、あるいはC57BL/6マウスの腹腔にリポポリサッカライドーブラスト（LPS-blast）（1mL）を一週間隔で3回免疫し、最終免疫一週間後にC1498muWT1細胞、又はC1498細胞を 2×10^6 細胞/100mLの量で腹腔に移植した。腫瘍ワクチン効果は、経日的に腫瘍径を測定し、以下の式を用いて腫瘍の大きさを算出することにより評価した。

$$[\text{腫瘍の大きさ}] = [(\text{長径}) \times (\text{短径})^2]^{1/3}$$

各群において腫瘍の大きさが20mmとなったところで実験を終了し

た。

結果

癌ワクチン用アジュバント（キャリヤー）としてのリポフェクチン（LPF）の評価は、モデル腫瘍抗原としてWT1を用い、モデル腫瘍としてWT1遺伝子導入細胞（C1498_{mu}WT1細胞）を用い、ペプチドD^b126/リポフェクチン（LPF）混合物を免疫した際のC1498_{mu}WT1細胞に対する抵抗性を指標に行った。その結果、ペプチドD^b126/リポフェクチン（LPF）混合物を免疫すると、8例中3例の完全拒絶が見られた（図2.A）。

更に、この抗腫瘍効果がWT1特異的であることを確認するために、WT1を発現していないC1498細胞を用いて、同様の検討を行ったところ、（a）ペプチドD^b126/リポフェクチン（LPF）混合物、（b）遊離のペプチドD^b126、及び（c）リポポリサッカライドーブラスト（LPS-blast）のいずれを免疫した場合においても、免疫していない群との差は見られなかった（図2.B）。従って、上記の抗腫瘍効果がWT1特異的であることが確認された。

請 求 の 範 囲

1. 癌抑制遺伝子WT1の産物又はその部分ペプチド又は修飾体を活性成分とする癌抗原とカチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン。
2. 前記癌抗原が、配列番号：1のアミノ酸配列において、Ph, Tyr, Leu, Met, Asn及びIleから選択される少なくとも1個のアンカーアミノ酸を含む、連続する7～30個のアミノ酸からなるペプチド、又は配列番号：2のアミノ酸配列において、Met, Leu及びValから選択される少なくとも1個のアンカーアミノ酸を含む、連続する7～30個のアミノ酸から成るペプチドである請求項1に記載の癌ワクチン。
3. 前記抗原が、癌抑制遺伝子WT1の高発現をもたらす癌の抗原である、請求項1又は2に記載の癌ワクチン。
4. 癌が、白血病、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌又は卵巣癌である、請求項1又は2に記載の癌ワクチン。
5. 前記癌抗原ペプチドが、
K^b 45 Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu (配列番号：3)
K^b 330 Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu (配列番号：4)
D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)
D^b 221 Tyr Ser Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met (配列番号：6)
D^b 235 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：7)
WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)
のいずれかである、請求項1～4のいずれかに記載の癌ワクチン。
6. 前記癌抗原ペプチドが、

D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)

、又は

WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)

である、請求項5に記載の癌ワクチン。

7. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を含み、9～30個のアミノ酸から成るペプチドである、請求項1に記載の癌ワクチン。

8. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を有するペプチドである、請求項7に記載の癌ワクチン。

9. 前記カチオン性リポソームが、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムクロライド、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート、もしくはジオクタデシルアミドーグリシルスペルミンまたはそれらと中性脂質との混合物を含むリポソームである、請求項1～8のいずれか1項に記載の癌ワクチン。

10. 前記カチオン性リポソームがリポフェクチンである請求項9に記載の癌ワクチン。

11. 癌ワクチンの製造のための、癌抑制遺伝子WT1の産物又はその部分ペプチド又は修飾体を活性成分とする癌抗原とカチオン性リポソームとの使用。

12. 前記癌抗原が、配列番号：1のアミノ酸配列において、Ph, Tyr, Leu, Met, Asn及びIleから選択される少なくとも1個のアンカーアミノ酸を含む、連続する7～30個のアミノ酸からなるペプチド、又は配列番号：2のアミノ酸配列において、Met, Leu及びValから選択される少なくとも1個のア

ンカーアミノ酸を含む、連続する7～30個のアミノ酸から成るペプチドである請求項11に記載の使用。

13. 前記抗原が、癌抑制遺伝子WT1の高発現をもたらす癌の抗原である、請求項11又は12に記載の使用。

14. 癌が、白血病、骨髓異形成症候群、悪性リンパ腫、多発性骨髓腫、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌又は卵巣癌である、請求項11又は12に記載の使用。

15. 前記癌抗原ペプチドが、

K^b 45 Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu (配列番号：3)

K^b 330 Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu (配列番号：4)

D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)

D^b 221 Tyr Ser Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met (配列番号：6)

D^b 235 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：7)

WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)

のいずれかである、請求項11～14のいずれかに記載の使用。

16. 前記癌抗原ペプチドが、

D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)

、又は

WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)

である、請求項15に記載の使用。

17. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を含み、9～30個のアミノ酸から成るペプチドである、請求項11に記載の使用。

18. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を有するペプチドである、請求項17に記載の使用。

19. 前記カチオン性リポソームが、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロライド、N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート、もしくはジオクタデシルアミドーグリシルスペルミンまたはそれらと中性脂質との混合物を含むリポソームである、請求項11~18のいずれか1項に記載の使用。

20. 前記カチオン性リポソームがリポフェクチンである請求項19に記載の使用。

21. 癌患者の治療方法において、癌抑制遺伝子WT1の産物又はその部分ペプチド又は修飾体を活性成分とする癌抗原とカチオン性リポソームとを投与することを含んで成る方法。

22. 前記癌抗原が、配列番号：1のアミノ酸配列において、Ph, Tyr, Leu, Met, Asn及びIleから選択される少なくとも1個のアンカーアミノ酸を含む、連続する7~30個のアミノ酸からなるペプチド、又は配列番号：2のアミノ酸配列において、Met, Leu及びValから選択される少なくとも1個のアンカーアミノ酸を含む、連続する7~30個のアミノ酸から成るペプチドである請求項21に記載の方法。

23. 前記抗原が、癌抑制遺伝子WT1の高発現をもたらす癌の抗原である、請求項21又は22に記載の方法。

24. 癌が、白血病、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌又は卵巣癌である、請求項21又は22に記載の方法。

25. 前記癌抗原ペプチドが、

K^b 45 Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu (配列番号：3)

K^b 330 Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu (配列番号：4)
 D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)
 D^b 221 Tyr Ser Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met (配列番号：6)
 D^b 235 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：7)
 WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)

のいずれかである、請求項21～24のいずれかに記載の方法。

26. 前記癌抗原ペプチドが、

D^b 126 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：5)
 、又は

WH 187 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号：8)
 である、請求項25に記載の方法。

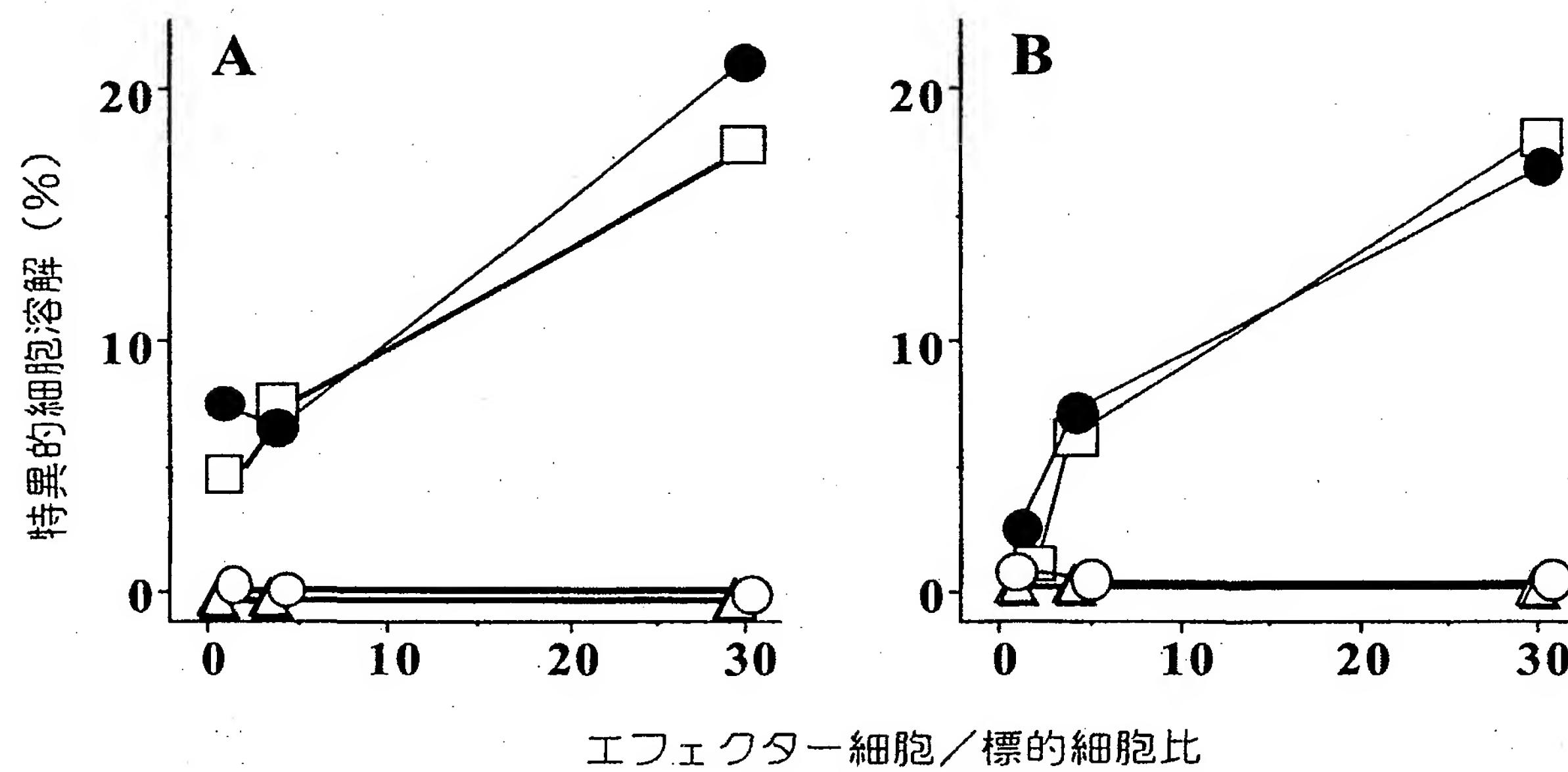
27. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を含み、9～30個のアミノ酸から成るペプチドである、請求項21に記載の方法。

28. 前記癌抗原ペプチドが、次のアミノ酸配列：Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：9) を有するペプチドである、請求項27に記載の方法。

29. 前記カチオン性リポソームが、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムクロライド、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート、もしくはジオクタデシルアミドーグリシルスペルミンまたはそれらと中性脂質との混合物を含むリポソームである、請求項21～28のいずれか1項に記載の方法。

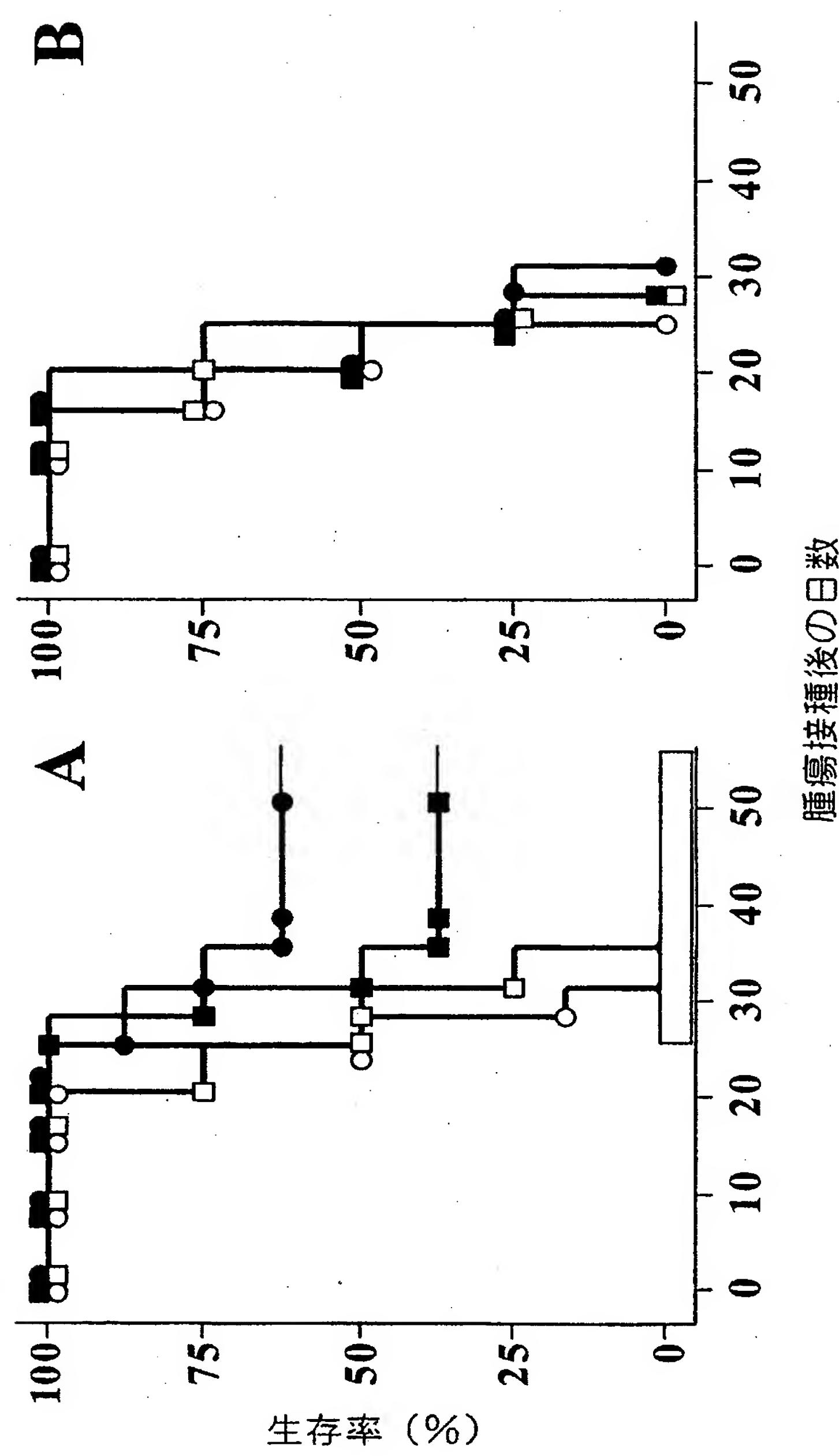
30. 前記カチオン性リポソームがリポフェクチンである請求項29に記載の方法。

Fig.1



1/2

Fig. 2



2/2

SEQUENCE LISTING

< 1 1 0 > Tadanori Mayumi et al.

< 1 2 0 > Cancer Vaccine Comprising Cationic Liposome and Cancer Antigen Based on Tumor Suppressor Gene WT1

< 1 3 0 > 9 8 3 2 7 9

< 1 6 0 > 8

< 2 1 0 > 1

< 2 1 1 > 4 4 9

< 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > M o u s e

< 4 0 0 > 1

Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Ser

5 10 15

Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Leu Pro Val Ser Gly Ala

20 25 30

Arg Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala

35 40 45

Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro Pro Pro

50 55 60

Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly

65 70 75 80

Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Leu His Phe

85 90 95

Ser Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe

100 105 110

Gly Pro Pro Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe

115 120 125

Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Glu Ser Gln Pro Thr Ile
130 135 140
Arg Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Thr Phe Asp Gly Ala Pro Ser Tyr
145 150 155 160
Gly His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His Ser Phe
165 170 175
Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln
180 185 190
Tyr Ser Val Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr Asp Ser
195 200 205
Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp
210 215 220
Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln
225 230 235 240
Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Met Ala Ala Gly Ser Ser Ser
245 250 255
Ser Val Lys Trp Thr Glu Gly Gln Ser Asn His Gly Ile Gly Tyr Glu
260 265 270
Ser Glu Asn His Thr Ala Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg Ile
275 280 285
His Thr His Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Ser
290 295 300
Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys
305 310 315 320
Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys
325 330 335

Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro
 340 345 350
 Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp
 355 360 365
 Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln
 370 375 380
 Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr
 385 390 395 400
 His Thr Arg Thr His Thr Gly Lys Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys
 405 410 415
 Arg Trp His Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val
 420 425 430
 Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu His Val Ala
 435 440 445
 Leu
 449
 <2 1 0> 2
 <2 1 1> 4 4 9
 <2 1 2> P R T
 <2 1 3> H u m a n
 <4 0 0> 2
 Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro
 5 10 15
 Ser Leu Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala Ala
 20 25 30
 Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr
 35 40 45

Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro
50 55 60
Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly
65 70 75 80
Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe
85 90 95
Ser Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe
100 105 110
Gly Pro Pro Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe
115 120 125
Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Glu Ser Gln Pro Ala Ile
130 135 140
Arg Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr
145 150 155 160
Gly His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His Ser Phe
165 170 175
Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln
180 185 190
Tyr Ser Val Pro Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr Asp Ser
195 200 205
Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp
210 215 220
Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln
225 230 235 240
Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser
245 250 255

Ser Val Lys Trp Thr Glu Gly Gln Ser Asn His Ser Thr Gly Tyr Glu
260 265 270

Ser Asp Asn His Thr Thr Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg Ile
275 280 285

His Thr His Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro
290 295 300

Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys
305 310 315 320

Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys
325 330 335

Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro
340 345 350

Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp
355 360 365

Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln
370 375 380

Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr
385 390 395 400

His Thr Arg Thr His Thr Gly Lys Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys
405 410 415

Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val
420 425 430

Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu Gln Leu Ala
435 440 445

Leu
449

< 2 1 0 > 3

<211> 8

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 3

Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu

1 5

<210> 4

<211> 8

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 4

Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu

1 5

<210> 5

<211> 9

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 5

Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 6

Tyr Ser Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 7

Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> P R T

<213> A r t i f i c i a l S e q u e n c e

<220>

<223> S y n t h e t i c P e p t i d e

<400> 8

Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> P R T

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 9

Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu

1

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06597

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K39/00, 45/08, A61P35/00, 35/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K39/00, 45/08, A61P35/00, 35/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CAS (STN), MEDLINE (STN),
DDBJ/EMBL/GenBank/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	G. Alexander, 'Immunity to WT1 in the animal model and patients with acute myeloid leukemia', Vol.96, Blood, 2000, pages 1480 to 1489	1-20
Y	Y. OKA, 'Human cytotoxic T-lymphocyte responses specific for peptides of the wild-type Wilms' tumor gene (WT1) product'. Vol.51, Immunogenetics, 2000, pages 99 to 107	1-20
Y	G. Nakanishi, 'Kation-sei Liposome o kogen Carrier to shite Mochiita CTL yudo', Vol.34, Clinical Immunology, 2000, pages 842 to 847	1-20

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search
17 September, 2002 (17.09.02)Date of mailing of the international search report
08 October, 2002 (08.10.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06597

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 21–30
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in these claims include "treatments of the human body by surgery or therapy".
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K39/00, 45/08, A61P35/00, 35/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K39/00, 45/08, A61P35/00, 35/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG)、BIOSIS (DIALOG)、CAS (STN)、MEDLINE (STN)
DDBJ/EMBL/GenBank/GenSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	G. Alexander, 'Immunity to WT1 in the animal model and patients with acute myeloid leukemia', Vol. 96, Blood, 2000, p. 1480-1489	1-20
Y	Y. Oka, 'Human cytotoxic T-lymphocyte responses specific for peptides of the wild-type Wilms' tumor gene (WT1) product.', Vol. 51, Immunogenetics, 2000, p. 99-107	1-20
Y	G. Nakanishi, 'カチオン性リポソームを抗原キャリアとして用いたCTL誘導' Vol. 34, 臨床免疫, 2000, p. 842-847	1-20

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.09.02

国際調査報告の発送日

08.10.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

加藤 浩

4C 9050



電話番号 03-3581-1101 内線 3450

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 21-30 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

同項の発明は、「人の身体の手術又は治療による処置」を含むものである。

2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

訂正版

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003年1月9日 (09.01.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/002142 A1

(51) 国際特許分類7: A61K 39/00, 45/08, A61P 35/00, 35/02

(74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA,Takashi et al.); 〒105-8423 東京都 港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/06597

(22) 国際出願日: 2002年6月28日 (28.06.2002)

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語: 日本語

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(26) 国際公開の言語: 日本語

添付公開書類:
— 国際調査報告書(30) 優先権データ:
特願2001-199449 2001年6月29日 (29.06.2001) JP

(48) この訂正版の公開日: 2003年12月11日

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒115-8543 東京都 北区浮間 5丁目5番1号 Tokyo (JP).

(15) 訂正情報:
PCTガゼットセクションIIの No.50/2003 (2003年12月11日)を参照

(71) 出願人および

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(72) 発明者: 真弓 忠範 (MAYUMI,Tadanori) [JP/JP]; 〒655-0041 兵庫県 神戸市 垂水区神陵台4-1-5 1-507 Hyogo (JP). 杉山治夫 (SUGIYAMA,Haruo) [JP/JP]; 〒562-0036 大阪府 箕面市 船場西2-19-30 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 大杉 義征 (OHSUGI,Yoshiyuki) [JP/JP]; 〒104-8301 東京都 中央区京橋2-1-9 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP).



(54) Title: CANCER VACCINE CONTAINING CANCER ANTIGEN BASED ON TUMOR SUPPRESSOR GENE WT1 PRODUCT AND CATIONIC LIPOSOMES

(54) 発明の名称: 癌抑制遺伝子WT1の産物に基づく癌抗原とカチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン

(57) Abstract: A cancer vaccine containing a cancer antigen comprising as the active ingredient a tumor suppressor gene WT1 product or its peptide fragment and cationic liposomes.

(57) 要約:

癌抑制遺伝子WT1の産物又はその部分ペプチドを活性成物とする癌抗原と、カチオン性リポソームとを含んで成る癌ワクチン。

WO 03/002142 A1